

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 02-243631
 (43)Date of publication of application : 27.09.1990

(51)Int.Cl.

A61K 31/58
 // C07J 71/00

(21)Application number : 01-064146

(71)Applicant : WAKUNAGA PHARMACEUT CO
 LTD

(22)Date of filing : 15.03.1989

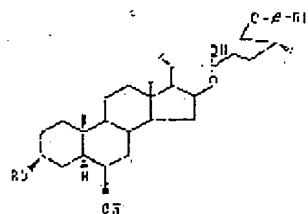
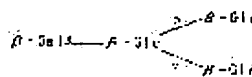
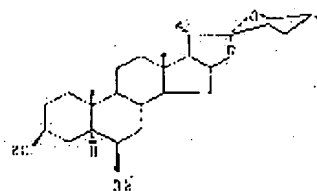
(72)Inventor : UDA NAOTO

(54) ANTI-CARCINOGENIC PROMOTER

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain a carcinogenic promoter inhibitor comprising eruboside B prepared from a plant of the genus Allium as an active ingredient.

CONSTITUTION: A carcinogenic inhibitor comprising a compound shown by formula I (R1 is group show by formula II), a spirostol derivative and extremely strongly inhibiting promotion stage in carcinogenesis. The compound shown by formula I is extracted from Allium sativum L., a plant of the genus Allium with water or an organic solvent mixable with water and further is obtained by treating steroidsaponin shown by formula III simultaneously prepared by the extraction with an enzyme or an acid. A dose of the compound is 10mg-10g, preferably 5mg-5g in oral administration.



BEST AVAILABLE COPY

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

平2-243631

⑬ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成2年(1990)9月27日

A 61 K 31/58
// C 07 J 71/00

ADU

7375-4C
7330-4C

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全4頁)

⑮ 発明の名称 抗発癌プロモーター

⑯ 特 願 平1-64146

⑰ 出 願 平1(1989)3月15日

⑱ 発 明 者 宇 田 直 人 広島県高田郡甲田町下甲立1624 湧永製薬株式会社中央研究所内

⑲ 出 願 人 湧 永 製 薬 株 式 有 限 公 司 大阪府大阪市福島区福島3丁目1番39号

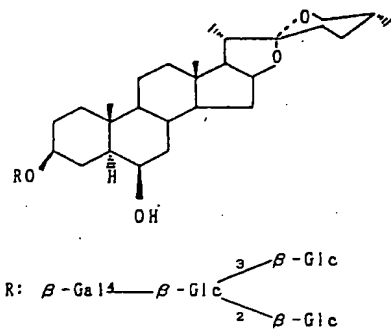
明 細 書

1. 発明の名称

抗発癌プロモーター

2. 特許請求の範囲

下記式で示される化合物



を有効成分とする発癌プロモーター抑制剤。

3. 発明の詳細な説明

〔発明の背景〕

技術分野

本発明はアリウム属植物から得られたエルボシド-Bを有効成分とする発癌プロモーター抑制剤に関する。

先行技術

近年、発癌メカニズムの研究から、発癌には、イニシエーションとプロモーションという質的に異なる2つのプロセスが関与することが提唱され、各々のプロセスに関与する物質もそれぞれイニシエーター、プロモーターとして数多く見出されている。TPA(12-O-tetra-decanoyl-phorbol-13-acetate)は従来からよく知られた代表的な発癌プロモーターであるが、最近では、プロモーターにはTPAと同様に、同一のレセプターに結合するTPA-タイププロモーターと、そのレセプターに結合しないnon-TPAタイププロモーターが存在することが報告されている。[Adv.

Cancer Res., 49, 223-264(1987)]

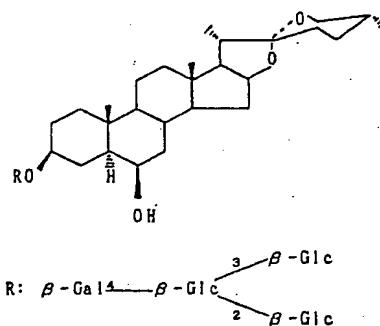
特開平2-243631(2)

〔発明の概要〕

要 旨

本発明は、アリウム属の植物[*Allium sativum* L.(オオニンニク)]の成分に関して鋭意研究を行なった結果、スピロスタノール誘導体であるエルボシド-Bに強力な発癌プロモーター抑制作用があったという発見に基づくものである。

従って、本発明による発癌プロモーター抑制剤は、下記式で示される化合物



を有効成分とすること、を特徴とするものである。

TPA-タイププロモーターには種々のホルボールエステル、テレオシジンやアブシアトキシシン等を、non-TPAタイププロモーターにはバリトキシシン、タブシガルギン等を挙げるができる。また、最近ではオカゲ酸[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 1768-1771(1988)]及びその35位のメチル誘導体であるジノフィシストキシシン-1[Jpn. J. Cancer Res.(Gann), 79, 1089-1093(1988)]が強力なnon-TPAタイププロモーターとして見い出されている。このような種々のプロモーターの発見に伴い、その作用を抑制する化合物の探索研究は、発癌予防剤の開発の分野で重要な課題の一つとなっている。

一方、エルボシド-Bは1979年にD.G.Chincharadzeらによって*Allium erubescens*より単離されたスピロスタノール誘導体で[Khim. Prir. Soedin., 509(1979)]、その薬理作用としては、細菌及び真菌に対する抗菌作用が報告されているのみである[特願昭63-49161号参照]。

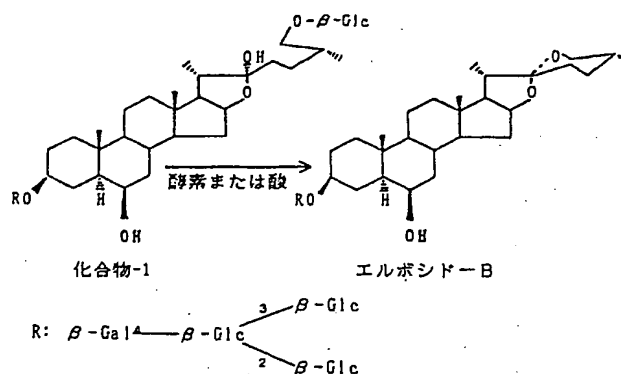
効 果

エルボシド-Bにこのような強力な抗プロモーター活性があったと言うことは思いがけなかったことというべく、そして本発明による発癌プロモーター抑制剤の提供は、発癌の予防に有益な貢献をなすものである。

〔発明の具体的説明〕

エルボシド-B

エルボシド-Bは下記の構造式で示されるスピロスタノール誘導体であり、*Allium sativum* L.(オオニンニク)より、水もしくは水と混合可能な有機溶媒より抽出され、さらに該抽出により同時に得られるステロイドサポニン(化合物-1)を酵素または酸処理することにより得ることができる[特願昭63-49161号参照]。



発癌プロモーター抑制効果

本発明における発癌プロモーター抑制効果は、後記実験例に示したように、発癌におけるプロモーション段階を極めて強力に抑制するものである。

従って、本効果は癌の化学予防として有用なものである。

発癌プロモーター抑制剤

本発明の発癌プロモーター抑制剤はエルボシド-Bそれ自体、または適宜製剤上の賦形剤、結合剤、

特開平2-243631(3)

希釈剤と混合して成るものであり、粉末、顆粒、錠剤、カプセル剤、シロップ剤、注射剤などの形態で経口的または非経口的に投与することができ、必要に応じて他の薬剤を調合させてもよい。投与量は、年齢、体重、症状により適宜増減するが、経口的には通常成人1日あたり10mg～10g、好ましくは50mg～5g程度である。

〔実験例〕

1. エルボシドーBの取得-1

ニンニク鱗茎2kgを水3ℓ中にて破砕した後、室温にて一晚抽出し、抽出液をMCI GEL® CHP 20P(三菱化成)によるカラムクロマトグラフィーに付し、粗サボニン画分5.0gを得た。この混合物についてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない[展開溶媒:クロロホルム-メタノール-水(7:3:0.5)]、さらに、MCI GEL® CHP 20Pによる逆相クロマトグラフィーに付し(展開溶媒:90%メタノール)、エルボシドーB 26mgを得た。

2. エルボシドーBの取得-2

Bio Chemical社製の0.1M酢酸緩衝液(pH 4.3)50mlを加え37°Cにて約2時間反応させた。反応後、反応液に水50mlを加え、MCI GEL® CHP 20Pを充填したカラムを通し、水、50%メタノール、メタノールにて順次溶出し、メタノールにて溶出した画分を減圧留去しエルボシドーB 0.17gを得た。

3. 発癌プロモーター抑制効果

ジノフィシストキシン-1によって引き起こされる細胞内のnucleolin fragment(N-60)のhyperphosphorylationを抑制する効力について、培養細胞を用いたin vitroの系で検定した。

ヒト角化細胞(5×10^5 cells/直径60mmディッシュ)を、MCDB 152 medium -0.5% Fetal calf serumにて培養し、翌日無機リン酸を含まない培地に交換して、その翌日実験に供した。

放射性無機リン酸 ^{32}P 溶液5μℓ(50μCi)を添加し、4時間インキュベートした後、エルボシドーBのDMSO溶液を5μℓ添加した。

ニンニク鱗茎4kgを凍結した後、メタノール2ℓ中にて破砕し、浴温約70°Cにて加熱抽出した後、濾過し、残渣を更にメタノール6ℓにて加熱抽出した。抽出液を合わせた後、メタノールを留去し水を加え全量を約3ℓとした。

この抽出液をMCI GEL® CHP 20Pによるカラムクロマトグラフィーに付し、水、20%メタノール及びメタノールで順次溶出し、メタノールで溶出される画分から粗サボニン画分8.6gを得た。この混合物についてシリカゲルカラムクロマトグラフィーを行ない[展開溶媒:クロロホルム-メタノール-水(6:4:1)]、目的化合物を含有する粗画分を得た(0.6g)。さらに、本画分につきMCI GEL® CHP 20Pによる逆相カラムクロマトグラフィーを行ない(展開溶媒:80%メタノール)、得られた画分(0.49g)をアセトン-水(2:5)の溶液とし、95°Cにて4時間加熱後、溶媒を留去して化合物-1を得た(0.45g)。得られた化合物-1(0.25g)にβ-グルコシダーゼ(0.25g, アーモンド由来, P.L.

1時間後、ジノフィシストキシン-1のDMSO溶液を5μℓ(100ng/ml)添加し、さらに2時間後インキュベートした後、培養細胞を回収し、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、オートラジオグラフィーを行なった。N-60のhyperphosphorylationをオートラジオグラフより濃度記録計を用い数値化し、抑制率を算出した。対照群にはDMSO溶液のみを添加したものをを用いた。結果を表-1に示す。

実験結果

表-1 発癌プロモーター抑制作用

化合物	ジノフィストキシン-1によるH-60の hyperphosphorylationの抑制率(%) [#]
エルボド-B (10 μ g/ml)	89.4 [#]
エルボド-B (1 μ g/ml)	41.0

[#] 2回の実験結果の平均値^{*} コントロールにおけるジノフィストキシン-1の効果を基準として、エルボド-Bによる抑制効果を%で示した。

特許出願人 湧永製薬株式会社

BEST AVAILABLE COPY